

# Ferramentas de diagnóstico de zika, algoritmos de teste e orientação de interpretação

**Julie M. Villanueva, PhD**

**Laboratory Preparedness and Response Branch**

**Ann M. Powers, PhD**

**Arboviral Diseases Branch**

Teleconferência de acompanhamento da cúpula ZAP

13 de junho de 2016

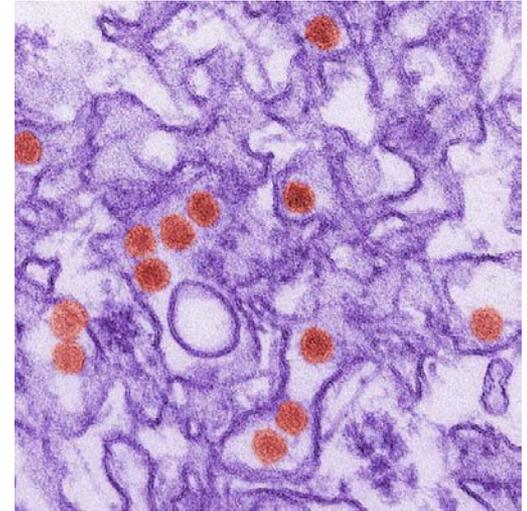
# VISÃO GERAL

- Virologia e história do zika
- Diagnóstico de zika
- Algoritmos de teste de diagnóstico
- Orientação para interpretação do teste
- Perguntas e respostas.

# Virologia e história do zika

# Zika vírus

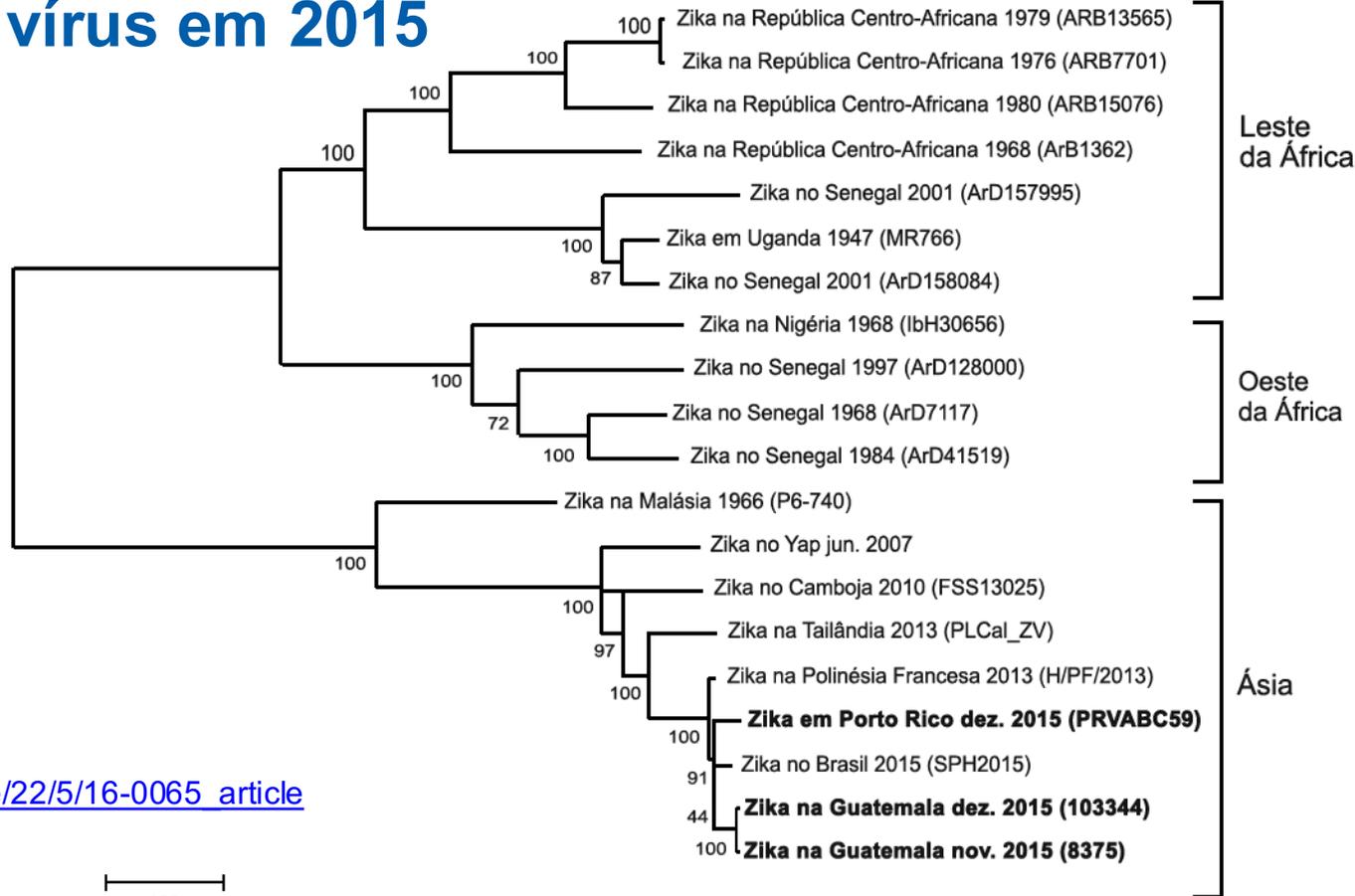
- **Descoberto na floresta Zika, Uganda, em 1947**
- **Flavivírus, RNA de cadeia única**
- **Transmitido por mosquitos (*Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*)**
- **Os sintomas podem incluir febre, erupção cutânea, conjuntivite e mialgia.**
- **A maioria das infecções é assintomática**
- **O vírus é detectável em soro, urina, saliva, e sêmen**
- **Surtos recentes incluem a Ilha Yap e os Estados Federados da Micronésia em 2007 e a Polinésia Francesa em 2013-2014.**



## Surto do vírus zika em 2015: Hemisfério ocidental

- Em maio de 2015, a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) emitiu um alerta sobre a primeira infecção pelo zika vírus confirmada no Brasil.
- Relatos da síndrome de Guillain-Barré (SGB) e de mulheres grávidas dando à luz bebês com defeitos congênitos e maus resultados de gravidez.

# Surto do zika vírus em 2015



Lanciotti et al., EID 2016:  
[http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/22/5/16-0065\\_article](http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/22/5/16-0065_article)

# Atualização de epidemiologia do zika vírus

## Casos de doença causada pelo zika vírus reportados ao ArboNET, 2015-2016 até 12 de junho de 2016

- **EUA**

- 691 casos associados a viagens
  - 206 gestantes
  - 2 casos de SGB
  - 11 casos de transmissão sexual.

- **Territórios dos EUA**

- 1.305 casos (~99% transmissão local)
  - 166 gestantes
  - 7 casos de SGB.

# Diagnóstico de zika

## Ensaio Trioplex rRT-PCR do CDC

- **Autorização de uso de emergência emitida em 17 de março de 2016**
- **Detecta zika, dengue e chikungunya no soro e no líquido cefalorraquidiano**
- **Detecta zika na urina e no líquido amniótico**
- **O teste é limitado a laboratórios qualificados designados pelo CDC.**

## Ensaio Trioplex rRT-PCR: Alterações à EUA

- **Protocolo de lise externo adicionado (31 de maio de 2016)**
- **Aumentar o volume de entrada de amostras para aumentar a sensibilidade – coleta de dados contínua**
- **Incluir plataformas automatizadas adicionais para aumentar a produção – plano sendo finalizado com a FDA.**

# RT-PCR em tempo real qualitativo de RNA do zika vírus da Focus Diagnostics

- **Autorização de uso de emergência emitida em 28 de abril de 2016**
- **O teste é limitado aos laboratórios da Quest Diagnostics**
- **Amostra aceitável: soro**
- **Detecta apenas zika.**

## **RT-PCR do zika vírus Altona RealStar®**

- **Autorização de uso de emergência emitida em 13 de maio de 2016**
- **O teste é limitado a laboratórios CLIA certificados para realizar testes de alta complexidade**
- **Amostras aceitáveis: soro e urina**
- **Detecta apenas o zika vírus.**

## MAC-ELISA para zika do CDC

- **Autorização de uso de emergência emitida em 26 de fevereiro de 2016.**
- **O teste é limitado a laboratórios qualificados designados pelo CDC.**
- **Resultados de teste com suspeita de serem positivos, duvidosos ou repetidamente inconclusivos requerem teste confirmatório.**
- **Amostras aceitáveis: soro e líquido cefalorraquidiano.**

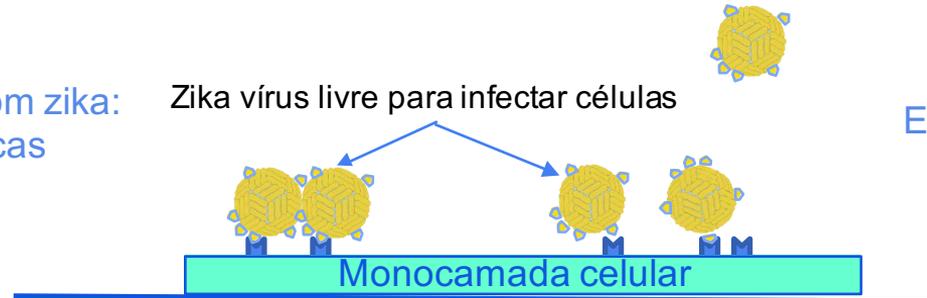
# Testes de anticorpos confirmatórios: teste de neutralização pela redução de placas (PRNT)

- Anticorpos antizika presentes em uma amostra neutralizam o vírus

Poço de teste

Paciente não infectado com zika:  
Formação de placas

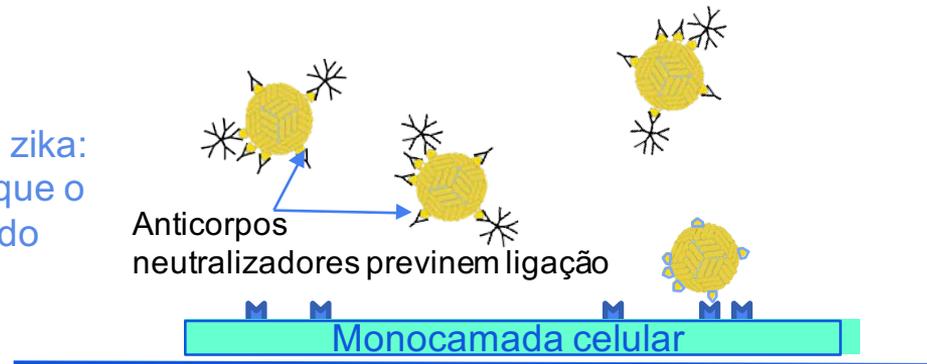
Zika vírus livre para infectar células



Exemplo de resultados usando  
soro de paciente infectado

Paciente infectado com zika:  
Redução de placas, já que o  
vírus está neutralizado

Anticorpos  
neutralizadores previnem ligação

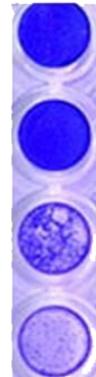


1:2

1:4

1:8

1:16



Soro de paciente

# MAC-ELISA para zika do CDC: Alterações à EUA

- Integrar partículas similares ao zika vírus (VLPs) no teste MAC- ELISA para zika para agilizar a fabricação de antígeno – dados sendo analisados pela FDA
  - Podem crescer facilmente em grandes quantidades e não são infecciosas.
- Adicionar sistema robótico automatizado ao MAC-ELISA para zika – dados iniciais coletados.

# Capacidade de teste da Rede de Laboratórios de Resposta nos EUA

- **Trioplex rRT-PCR do CDC**

- 102 laboratórios receberam reagentes (todos os estados e DC e PR)
- 74 completaram o painel de verificação (39 estados e DC e PR).

- **MAC-ELISA para zika do CDC**

- 52 laboratórios receberam reagentes – 42 estados, DC e PR
- 38 completaram o painel de verificação (32 estados e DC).

# Capacidade de disponibilização rápida do teste de diagnóstico de zika nos EUA

- Reunir-se com estados com alto risco de transmissão local e desenvolver capacidade para atender à demanda de teste potencial.
- Incentivar todos os laboratórios a considerar a capacidade máxima, mesmo que o estado não seja considerado de alto risco.
- Identificar desafios do envio de amostras entre fronteiras estaduais e reportar resultados.
- Conceder US\$ 40 milhões para beneficiários do ELC em agosto para atividades de vigilância, diagnóstico em laboratório e comunicação do zika vírus.

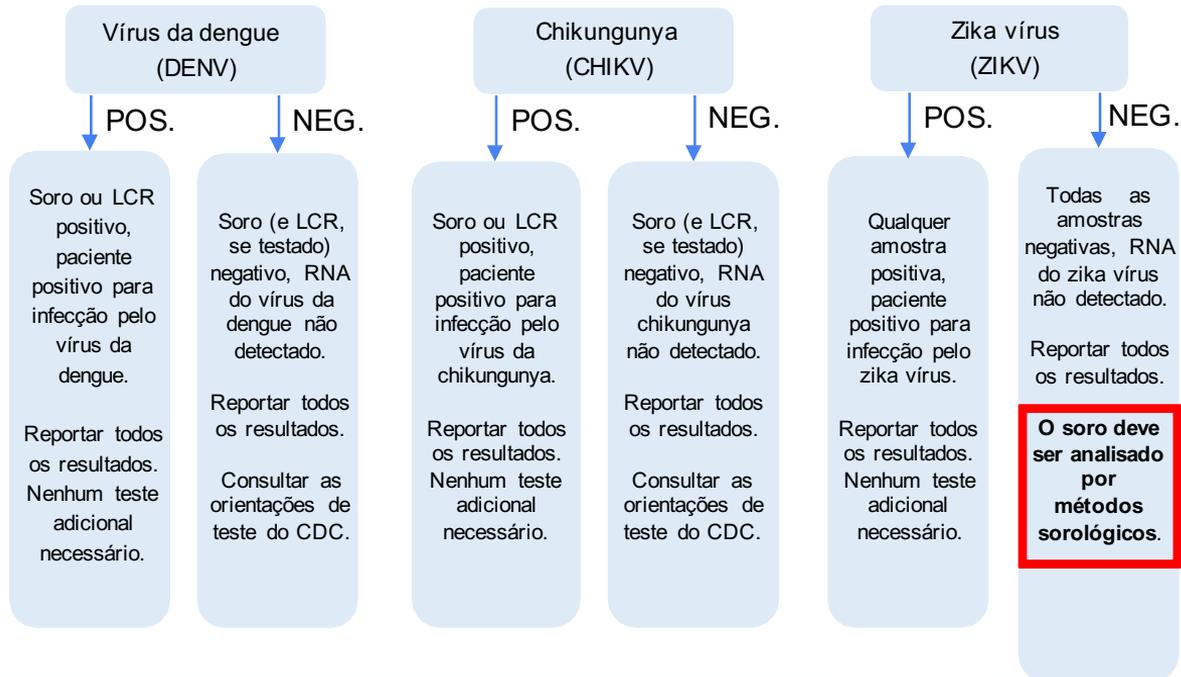
# Algoritmos de teste de diagnóstico

## Coleta de urina de pacientes sintomáticos

- Amostras de urina coletadas há menos de 14 dias devem ser coletadas e testadas por rRT-PCR junto com soro do paciente.
- MMWR descrevendo a detecção do RNA do zika vírus na urina em 10/5/2016.
- Aviso de saúde da Rede de Alerta de Saúde (HAN) sobre testes de diagnóstico de amostras de urina para suspeita de infecção pelo zika vírus em 25/5/2016.

**Algoritmo para teste de pacientes sintomáticos:**  
**Soro coletado há menos de 7 dias e urina coletada há mais de 14 dias**  
**após o início dos sintomas**  
(LCR ou líquido amniótico para alguns testes)

Testar todas as amostras com **Trioplex rRT-PCR**  
Observação: Testes de urina e líquido amniótico são autorizados somente para ZIKV.



**Algoritmo para teste de pacientes sintomáticos:**  
Soro e/ou LCR coletado há mais de 7 dias após o início dos sintomas

**Teste sorológico**

Amostras de soro e/ou LCR devem ser testadas por:

- MAC-ELISA para zika
- um teste de IgM da dengue
- um teste de IgM da chikungunya

POS

Qualquer teste **com suspeita de ser positivo, duvidoso ou inconclusivo.**

Reportar os resultados.

Encaminhar para confirmação por PRNT

NEG.

Todos os testes **negativos**, sem evidência de infecção por zika vírus.

Reportar os resultados.

**Não é necessário nenhum outro teste de amostra.**

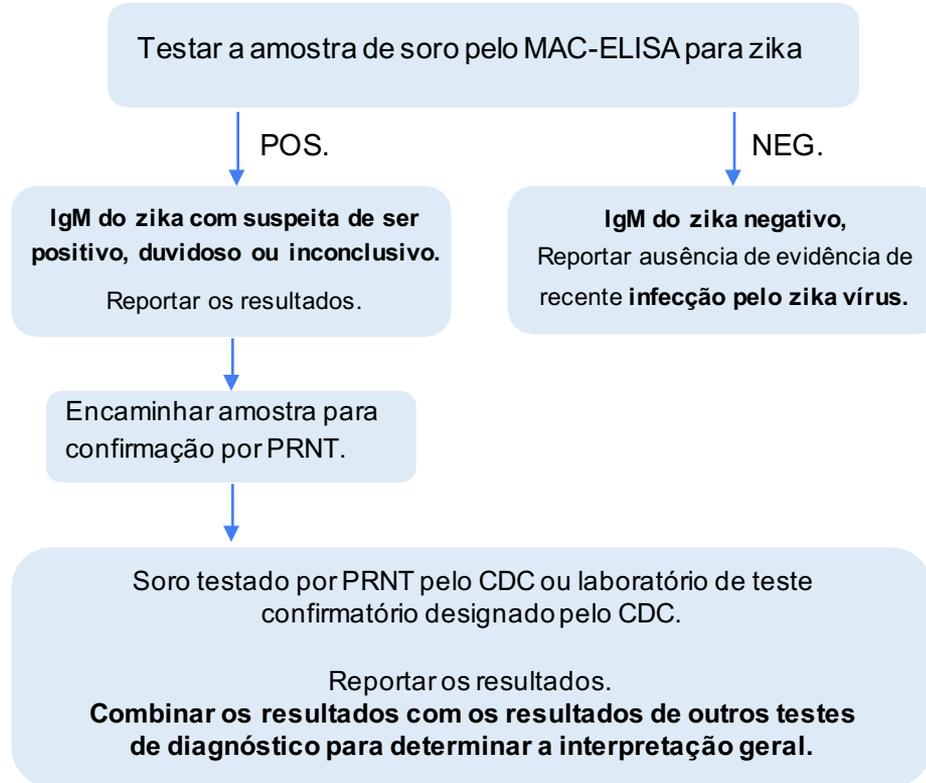
Soro testado por PRNT pelo CDC ou laboratório de teste confirmatório designado pelo CDC.

Reportar os resultados.

**Combinar os resultados com os resultados de outros testes de diagnóstico para determinar a interpretação geral.**

## Algoritmo para teste de gestantes assintomáticas:

Mulheres que residem em uma região com transmissão ativa do zika vírus ou 2 a 12 semanas após viagem para uma região com transmissão ativa do zika vírus ou contato sexual com uma pessoa com confirmação de infecção pelo zika vírus.



# Relatório

- **A doença do zika vírus é uma condição que deve ser notificada em âmbito nacional**
  - [ArboNET](#) – Sistema de vigilância nacional para doenças transmitidas por arbovírus.
- **Registros de gravidez nos EUA**
  - ZAPSS – Sistema de vigilância ativa de gravidez com zika (Porto Rico)
  - USZPR – Registro de gravidez com zika (pacientes dos EUA).

**Orientação para interpretação do teste**

# Orientação provisória: interpretação dos resultados de teste de anticorpos do zika vírus

- Uma diferença de 4 vezes na concentração no PRNT pode não diferenciar entre anticorpos antizika vírus e anticorpos de reação cruzada em todas as pessoas que foram infectadas anteriormente por um flavivírus relacionado ou vacinadas contra ele.
- As interpretações de resultados do PRNT foram atualizadas para reduzir a possibilidade de não conseguir diagnosticar infecção pelo zika vírus ou o vírus da dengue.
- Gestantes com interpretação de infecção por zika ou flavivírus devem ser avaliadas e controladas quanto a resultados de gravidez adversos e devem ser reportadas ao registro apropriado.

# Orientação provisória: interpretação dos resultados de teste de anticorpos do zika vírus

TABELA. Interpretação de resultados de testes de anticorpos para suspeita de infecção pelo zika vírus<sup>\*,†,§,¶,\*\*\*</sup> — Estados Unidos, 2016

ELISA IgM para o zika vírus e o vírus da dengue	PRNT para o zika vírus	PRNT para o vírus da dengue	Interpretação
Positivo ou duvidoso (qualquer ensaio)	≥10	<10	Infecção recente por zika vírus
Positivo ou duvidoso (qualquer ensaio)	<10	≥10	Infecção recente por vírus da dengue
Positivo ou duvidoso (qualquer ensaio)	≥10	≥10	Infecção recente por flavivírus; não é possível identificar o vírus específico
Inconclusivo em um ensaio E inconclusivo ou negativo no outro	≥10	<10	Evidência de infecção por zika vírus; não é possível determinar o momento
Inconclusivo em um ensaio E inconclusivo ou negativo no outro	<10	≥10	Evidência de infecção por vírus da dengue; não é possível determinar o momento
Inconclusivo em um ensaio E inconclusivo ou negativo no outro	≥10	≥10	Evidência de infecção por flavivírus; não é possível determinar o vírus específico nem o momento
Qualquer resultado (qualquer um ou ambos os ensaios)	<10	<10	Nenhuma evidência de infecção por zika vírus ou vírus da dengue
Positivo para o zika vírus E negativo para o vírus da dengue	Ainda não realizado	Ainda não realizado	Suspeita de infecção recente por zika vírus
Positivo para o vírus da dengue E negativo para o zika vírus	Ainda não realizado	Ainda não realizado	Suspeita de infecção recente por vírus da dengue
Positivo para o zika vírus E negativo para o vírus da dengue	Ainda não realizado	Ainda não realizado	Suspeita de infecção recente por flavivírus
Duvidoso (qualquer um ou ambos os ensaios)	Ainda não realizado	Ainda não realizado	Resultados duvidosos
Inconclusivo em um ensaio E inconclusivo ou negativo no outro	Ainda não realizado	Ainda não realizado	Resultados inconclusivos
Negativo para o zika vírus E negativo para o vírus da dengue	Não indicado	Não indicado	Nenhuma evidência de infecção recente por zika vírus ou vírus da dengue

Abreviações: ELISA = ensaio de imunoadsorção enzimática; IgM = anticorpos de imunoglobulina M; PRNT = teste de neutralização pela redução de placas.

\*Para pessoas com suspeita de doença causada pelo zika vírus, o rRT-PCR para reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (rRT-PCR) em tempo real deve ser realizado em amostras de soro coletadas menos de 7 dias após o início dos sintomas e em amostras de urina coletadas menos de 14 dias após o início dos sintomas.

† Na ausência de teste rRT-PCR, testes negativos para IgM ou anticorpos neutralizantes em amostras coletadas menos de 7 dias após o início da doença podem refletir coleta antes do desenvolvimento de anticorpos detectáveis, e não elimina a infecção com o vírus para o qual o teste está sendo realizado.

§ O resultado positivo de IgM do zika é reportado como “suspeita de positivo” para indicar a necessidade de realizar o PRNT confirmatório.

¶ Informe qualquer resultado positivo ou duvidoso de IgM do zika ou dengue ao departamento de saúde estadual ou local.

\*\*\* Para resolver resultados falso positivos que podem ser causados por reatividade cruzada ou reatividade não específica, a suspeita de resultados positivos de IgM do zika deve ser confirmada com concentrações de PRNT de zika, dengue e outros flavivírus aos quais a pessoa possa ter sido exposta. Além disso, resultados duvidosos e inconclusivos que não são resolvidos por novo teste também devem ter o teste de concentração PRNT realizado para eliminar um resultado falso positivo.

# Orientação provisória: interpretação dos resultados de teste de anticorpos do zika vírus

- Um PRNT usando um valor limite de 90% com uma concentração de  $\geq 10$  em relação ao zika vírus, junto com PRNTs negativos (i.e.,  $< 10$ ) em relação a outros flavivírus é confirmatório para infecção pelo zika vírus.
- Uma concentração de PRNT de  $\geq 10$  para o zika vírus e o vírus da dengue (ou outro flavivírus) fornece evidência de uma infecção por flavivírus, mas impede a identificação do vírus infectante específico.
- Para amostras coletadas há menos de 7 dias após o início dos sintomas a combinação de um rRT-PCR negativo e uma concentração de PRNT de  $< 10$  sugere que não ocorreu infecção pelo zika vírus.

**Alguma pergunta?**

Para obter mais informações, entre  
em contato com o CDC  
1-800-CDC-INFO (232-4636)  
TTY: 1-888-232-6348 [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

As constatações e conclusões deste relatório são dos autores e não representam necessariamente a  
posição oficial dos Centros de Controle e Prevenção de Doenças.

